

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA

ISABELLA COUTO RESENDE



**SÍNTESE DE HIDROGÉIS A PARTIR DE BIOMASSA DO CERRADO E SUA
UTILIZAÇÃO COMO VEÍCULO DE LIBERAÇÃO DE DICLOFENACO DE SÓDIO**

BRASÍLIA

2018

SÍNTESE DE HIDROGEL A PARTIR DE BIOMASSA DO CERRADO E SUA UTILIZAÇÃO COMO VEÍCULO DE LIBERAÇÃO DE DICLOFENACO DE SÓDIO

Monografia submetida ao curso de graduação em Química Tecnológica da Universidade de Brasília, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Química Tecnológica.

Orientadora: Prof.^a Dra. Sarah Silva Brum

Co-orientador: Ana Caroline Martins Vieira

BRASÍLIA

2018

*Minha energia é o desafio,
minha motivação é o impossível,
e é por isso que eu preciso
ser, à força e a esmo, inabalável.*

(Augusto Branco)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelo Teu amor de pai, que me protege, me conforta e me traz tanta paz e felicidade. Obrigada por me dar força quando eu mais preciso, sabedoria para encarar a vida, e capacidade intelectual – não só neste trabalho – mas em toda minha vida.

Agradeço à minha família pelo enorme amor e carinho que têm comigo. Por estarem ao meu lado em todos os momentos, sejam eles de alegria, raiva, vitórias e desafios. Aos meus pais por acreditarem tanto em mim. Meus irmãos, Victor Hugo e Eduardo Júnior, por serem motivo de tanta alegria em minha vida. Eu amo vocês!

À professora Sarah Brum, por ser uma “mãe científica” maravilhosa, que me acolheu desde o terceiro semestre de graduação e cuidou tão bem para que eu aprendesse e crescesse tanto cientificamente. Obrigada por todos os ensinamentos, broncas, apoio, carinho, e força que me deu no momento que eu mais precisei. Você é demais!

À Ana, minha co-orientadora, que desde minha primeira Iniciação Científica sempre teve tanta paciência e zelo comigo. Pesquisamos, planejamos, sofremos com os obstáculos para fazer os experimentos (que sempre dava algo errado!), chegamos a ótimos resultados, comemoramos.... Obrigada por todo ensinamento e companheirismo, Ana.

Aos meus amigos de curso, que tornaram esse caminho tão divertido... que estudamos e passamos muita raiva e estresse, mas que sempre tinha brincadeiras e risadas para descontrair! Obrigada por ouvirem meus desabafos e compartilharem comigo as mesmas dúvidas e medo do que poderia vir pela frente. Sem vocês, com certeza, esses 5 anos de graduação não teriam sido tão legais!

Aos meus amigos, que 99% odeiam ou não entendem nada de química, mas que sempre me apoiaram e estiveram do meu lado, me incentivando e confiando no meu potencial. Vocês são incríveis. Obrigada por todo incentivo e carinho.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Árvore e fruto do tingui

Figura 2 –Parte interior do envoltório do Tingui

Figura 3 –Parte exterior do envoltório do Tingui e a semente separada

Figura 4 –Processo de extração do hidrogel natural de *Magonia Pubescens* do envoltório da semente por via úmida.

Figura 5 – Processo de produção do Hidrogel Raspado Purificado (HRP)

Figura 6 – Formulação de DS em HPR

Figura 7 –Determinação do ponto de carga zero do Hidrogel obtido por via úmida purificado (HRP)

Figura 8 – Cinética de liberação de DS utilizando o Hidrogel obtido por via úmida purificado (HRP) como veículo em diferentes condições de pHs

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Grau de intumescimento da biomassa in natura e dos materiais sintetizados

Tabela 2 – Percentual de Artemia mortas em diferentes concentrações da amostra depois de 8 e 24 horas de exposição.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

DS – Diclofenaco de Sódio

HMP – Hidrogel moído purificado

HMPR – Hidrogel moído purificado e reticulado

HRP – Hidrogel raspado purificado

HRPR – Hidrogel raspado purificado e reticulado

m/m – Relação entre massa e massa

MBAAm – N'-N-metilenobisacrilamida

TEMED – N,N,N',N' – tetrametil-etilenodiamina

PAAm – Poliacrilamida

Q – Grau de intumescimento

PCZ – Ponto de carga zero

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	10
1. REFERENCIAL TEÓRICO	11
1.1 Processo Inflamatório	11
1.2 Anti-inflamatórios não esteróides (AINE's)	11
1.3 Diclofenaco de Sódio	12
1.4 Vias de administração de fármacos.....	14
1.5 Veículos de administração tópica	15
1.6 Hidrogel	16
1.6.1 Hidrogel natural	17
2. OBJETIVOS.....	18
2.1 Objetivos gerais	18
2.2 Objetivos específicos	18
3. MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1 Produção do Hidrogel Moído Purificado (HMP) e Moído Purificado e Reticulado (HMPR)	18
3.1.1 Coleta da Matéria Prima	18
3.1.2 Moagem e peneiramento do envoltório da <i>Magnoia pubescens</i> - Extração seca	19
3.1.3 Purificação do gel com Clorito de Sódio 30%	19
3.1.4 Modificação do gel purificado com N'-N'metilenobisacrilamida	20
3.1.5 Secagem do gel purificado	20
3.2 Produção do Hidrogel Raspado Purificado (HRP) e Raspado Purificado e Reticulado (HRPR)	20
3.2.1 Coleta da Matéria Prima	20
3.2.2 Raspagem do gel do envoltório da <i>Magnoia pubescens</i> in natura - Extração úmida	21
3.2.3 Secagem e Moagem do gel in natura	21

3.2.4 Purificação do gel <i>in natura</i> com Agente oxidante	22
3.2.5 Modificação do gel purificado com N'-N'metilenobisacrilamida	22
3.2.5 Secagem do gel purificado	22
3.3 Grau de intumescimento (Q)	23
3.4 Teste de toxicidade	23
3.5 Ponto de carga zero do biogel	24
3.6 Preparação da formulação	24
3.7 Ensaio <i>in vitro</i> de liberação de Diclofenaco de Sódio (DS)	25
3.8 Análises em Espectrofotômetro UV-vis	25
3.9 Cálculo de porcentagem de DS liberada	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1 Grau de intumescimento	26
4.2 Teste de toxicidade	28
4.3 Ponto de carga zero	29
4.4 Ensaio de liberação de DS	30
5. CONCLUSÃO E PERSPECTIVA	32
6. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	33

INTRODUÇÃO

Existem no mercado muitas vias de administração de fármacos, entretanto, muitas delas não trazem conforto e bem-estar ao paciente, o que dificulta muito o processo de adesão deste ao tratamento. Neste sentido, vem sendo estudadas formas mais eficientes de entrega de fármacos que, além de diminuir os efeitos colaterais causados pela droga podem também potencializar seus efeitos benéficos na eliminação dos sintomas e melhora da patologia que está sendo tratada.

Uma destas formas terapêuticas são os dispositivos de liberação de fármacos, cujo um dos representantes são os Hidrogéis. Estes materiais são polímeros superabsorventes que tem a capacidade de absorver em suas estruturas grande quantidade de água e/ou fluidos biológicos sem sofrer dissolução de suas cadeias. Devido a estas características, são utilizados nos mais variados ramos da indústria, desde utilidades domésticas como fraldas, absorventes descartáveis até produtos de uso médico e farmacêutico como substituição de cartilagens, além de cápsulas de liberação controlada de medicamentos. (CHANG & ZHANG, 2011; KONO & FUJITA, 2012, WANG et al, 2014)

Os hidrogéis podem ser obtidos a partir de várias fontes de matéria-prima, tanto artificiais como naturais. Para uso médico e farmacêutico, os hidrogéis de fontes naturais têm ganhado grande destaque pelas suas características de biocompatibilidade. Contudo, para evitar a contaminação, desenvolvimento de reações alérgicas, entre outras alterações não desejadas devido a presença de compostos orgânicos e/ou inorgânicos naturalmente presentes nos hidrogéis naturais, além de melhorar sua performance para torna-los competitivos, é preciso purifica-lo e modifica-lo quimicamente. Neste contexto, a reticulação representa um meio de se obter hidrogéis com propriedades diferenciadas, ultrapassando estas barreiras e criando novos materiais com características físicas, químicas e biológicas capazes de atender ao mercado de maneira sustentável.

O objetivo deste trabalho é desenvolver hidrogéis naturais biocompatíveis e atóxicos através de biomassa nativa do Cerrado brasileiro, o Tingui (*Magonia pubescens* St.Hil), um fruto do Cerrado cujos envoltórios das sementes produzem um hidrogel natural e avaliar seu desempenho como dispositivo de liberação de

fármaco. A molécula escolhida foi o Diclofenaco de Sódio, um anti-inflamatório não esteroide bastante utilizado principalmente para alívio de dor e edemas pós cirúrgicos. Quando administrado ao paciente por via oral sua biodisponibilidade é reduzida de 50 a 60% no metabolismo de primeira passagem, entretanto, sua aplicação por via tópica, ou local, este penetra mais facilmente em tecidos inflamados uma vez que possui alta afinidade pela albumina – principal proteína presente na região inflamada – (DAY et al. 1999).

Este trabalho visa, portanto, juntar duas frentes de pesquisa de grande utilidade pela comunidade científica e industrial: o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis no desenvolvimento de novos materiais e sua consequente aplicação na área da saúde, promovendo bem-estar, eficiência e eficácia no tratamento de enfermidades comuns nas rotinas médico-farmacêutica.

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Processo Inflamatório

O processo inflamatório, que está presente em diversas patologias, é uma resposta do organismo diante de uma infecção ou do tecido à injúria celular (alteração do metabolismo celular ocorrendo perda de habilidade de manter o estado de homeostase normal). É caracterizado como um processo complexo e pode-se manifestar de duas formas: uma resposta inata, que é responsável pelas características físicas da região inflamada, como vermelhidão, aquecimento, dor, perda de função, edema; e ainda uma resposta imunológica específica, em que ocorre o acúmulo de células provenientes do sistema imunológico (leucócitos, macrófagos e linfócitos). Os anticorpos produzidos pelos linfócitos durante este tipo de resposta imunológica melhoram acentuadamente a resposta do organismo hospedeiro. (COUTINHO et al., 2009)

Diversos mediadores químicos são liberados devido à exposição das células aos patógenos e a lesão tecidual, e responsáveis pelas características da área inflamada. Histamina, metabólitos do ácido araquidônico (prostaglandinas (PG), tromboxanos e leucotrienos), fator de ativação plaquetária, bradicinina, óxido nítrico,

neuropeptídeos e citocinas são exemplos desses mediadores químicos. (COUTINHO et al., 2009)

Os fosfolipídios das membranas celulares liberam o ácido araquidônico, que livre pode ser metabolizado por duas classes principais de enzimas: as ciclo-oxigenases (COX), iniciando a biossíntese de prostaglandinas e tromboxanos e pelas lipo-oxigenases (LOX), originando a biossíntese de leucotrienos. A isoforma ciclooxigenase1 (COX-1) encontrada em vários tecidos é uma enzima constitutiva, desempenhando função ao promover homeostasia, principalmente nos tecidos das plaquetas e do estômago. Já a ciclooxigenase2 (COX-2) é uma enzima induzida na inflamação, quando estas são ativadas durante o processo e tende a facilitar a resposta inflamatória. (COUTINHO et al., 2009)

1.2 Anti-inflamatórios não esteroides (AINE's)

Os AINE's é a classe de fármacos mais utilizada no tratamento de dor aguda e crônica decorrente do processo de inflamação. Possuem propriedades analgésicas, antipirética e antiinflamatória, e sua ação decorre da inibição da síntese de prostaglandinas (PG), mediante inibição das enzimas COX-1 e COX-2. (SILVA et al., 2014)

Muitos AINE's inibem tanto o COX-1, quanto o COX-2, trata-se de uma inibição não-seletiva. O mais antigo deles é a Aspirina, mas além da aspirina outros se destacam, como o ibuprofeno, o diclofenaco de sódio e o piroxicam. Entre os problemas desses AINE's não seletivos, está nos efeitos colaterais causados no trato gastrointestinal: inibição da proteção de sua mucosa e o aumento da secreção ácida, podendo levar à erosão, ulceração, perfuração e hemorragia, uma vez que inibindo o COX-1, bloqueia a biossíntese de importantes prostaglandinas, que são fundamentais para proteger a mucosa gástrica dos efeitos corrosivos do ácido estomacal, bem como para manter a condição naturalmente saudável da mucosa gástrica. (BATLOUNI, 2010)

Diante deste problema, a fim de evitar esses efeitos colaterais, foi introduzido no mercado inibidores seletivos do COX-2, que visa manter a eficácia antiinflamatória sem os efeitos gastrointestinais indesejáveis, dentre eles estão o celecoxibe e o refecoxibe – que foi retirado do mercado devido aos seus efeitos colaterais. Porém, estes fármacos também podem causar problemas, tais como

doenças cardiovasculares e renais, o que fez com que a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aumentasse o controle da venda dessa classe de AINE. Estes então, só são vendidos com receita médica. (COUTINHO et al., 2009)

Devido aos efeitos colaterais, essa classe de medicamentos deve ser utilizada após fazer um balanço de riscos e benefícios para o paciente. Porém, ainda é a classe mais utilizada na prática clínica, uma vez que é bastante eficiente para tratamento de sintomas de processos inflamatórios.

1.3 Diclofenaco de Sódio

O diclofenaco de sódio foi desenvolvido na década de 60, afim de obter um antiinflamatório não esteride (AINE) que apresentasse grande tolerância e alta atividade (SALLMANN, 1986). Em 1974 foi lançado pela primeira vez no Japão, pela Geigy Pharmaceuticals com o nome comercial de Voltarenfi. Depois seu uso se estendeu por mais 120 países e já em 1986 aproximadamente 150 milhões de pacientes espalhados por todo o mundo já faziam uso dessa droga (CATALANO, 1986). Comprimidos gastro-resistentes de diclofenaco sódico 50mg estão entre os quinze medicamentos mais vendidos no mercado farmacêutico nacional (MORTELO, 2004).

O diclofenaco, o primeiro antiinflamatório pertencente à classe dos não esteróides (AINEs) a ser aprovado, é um derivado do ácido fenilacético e compete com o ácido araquidônico pela ligação à enzima ciclo-oxigenase, resultando na diminuição da formação local de prostaglandinas. (MARTÍNEZ et al., 2004).

Este fármaco é um dos princípios ativos mais vendidos no Brasil e esse grande consumo é devido a uma ampla diversidade de aplicações, que vão desde o tratamento pós-operatório até o tratamento pós-traumático da dor (MULLER et al., 2004). Possui propriedades anti-reumática, anti-inflamatória, analgésica e antipirética e por isso é indicado para uso em condições dolorosas crônicas e agudas, inflamação pós-operatória e pós-traumática, aliviando a dor e diminuindo a reação inflamatória e o edema.

O diclofenaco é submetido a um significativo metabolismo de primeira passagem e apenas 60% do fármaco atinge a circulação sistêmica inalterada após a experiência foi adquirida com o fármaco na prática clínica. Cerca de 12% dos pacientes experimentam efeitos colaterais, que são geralmente leves e transitórios, e

1,5% a 2% têm a droga retirada. (TOOD, 1988). Estes efeitos colaterais ocorrem entre 0,1% e 1% dos pacientes que utilizam este medicamento, especialmente quando administrado em dose diária elevada (150 mg) por um período longo, são eles: dor no peito súbita e opressiva, falta de ar, dificuldade de respirar quando deitado, inchaço dos pés ou pernas. Há outros efeitos que ocorrem em menos de 0,01% e 0,1% dos pacientes que utilizam este medicamento, que são: sangramento espontâneo ou contusão, febre alta, infecções frequentes, dor de garganta persistente, dificuldade para respirar ou deglutir, tontura, febre, náusea, vômito, dor de cabeça, entre outros. (ANVISA, 2018)

1.4 Vias de administração de fármacos

Vias de administração são as formas como os fármacos entram no organismo. Pode-se dividir as vias em dois subgrupos: a via enteral e a parenteral. A primeira, vem do grego *entereon* que significa intestino, e são as vias oral, retal e sublingual; a segunda vem do grego *para* - ao lado -, ou seja, que não é enteral; ela inclui as vias injetável, tópica, nasal, subcutânea, ocular, entre outros. Cada via é indicada para uma situação específica e apresenta suas vantagens e desvantagens.

O diclofenaco de sódio é encontrado comercialmente em comprimidos, para administração oral, injeção para administração injetável e gel, creme e emulgel para administração tópica.

A eficácia de comprimidos de liberação de diclofenaco foi testada em vários tratamentos, como: dores e sinais de inflamação pós-operatórias, danos teciduais, síndromes dolorosas da coluna, formas degenerativas e inflamatórias de reumatismo, distúrbios reumáticos, osteoartrite, espondilite anquilosante, condições ginecológicas dolorosas crises de gota cólica biliar e renal.

O diclofenaco é rápido e eficientemente absorvido após a administração oral ou intramuscular convencional. Após administração intramuscular, as concentrações plasmáticas máximas são atingidas após 10 a 30 minutos, a depender do tratamento. Com a formulação com revestimento entérico, as concentrações de pico são atingidas após 1,5 a 2,5 horas, e isso é retardado pela comida para 2,5 a 12

horas. Após uma dose única de 50 mg destas formulações, as concentrações plasmáticas médias máximas do diclofenaco são de 0,7 a 1,5 mg/L. (TODD, 1988)

A administração de 75 mg de diclofenaco, por via oral, foi efetiva no tratamento de cólica biliar de 91% dos pacientes com cólica renal aguda após uma hora, em estudo randomizado prospectivo. O alívio foi observado até 3 horas após a administração. A administração de 50 mg ou 75 mg de diclofenaco intramuscular tem a mesma eficácia do estudo acima, mas com início de ação observado após 30 minutos. (ANVISA, 2018)

O diclofenaco de sódio é bem absorvido após administração oral, porém sua biodisponibilidade é reduzida de 50 a 60% no metabolismo de primeira passagem – quando é passado pelo fígado (PERIS-RIBERA et al. 1991). Biodisponibilidade está relacionada à quantidade de medicamento que atinge a circulação sanguínea. É absorvido no trato intestinal, onde é se dissolve bem. O contrário ocorre no líquido gástrico, em que o pH é ácido, fazendo com que ele sofra ionização – o que dificulta sua solubilização e posterior absorção.

Embora as formas farmacêuticas de uso oral sejam as mais prescritas em função da facilidade de administração e maior estabilidade, são as que mais apresentam problemas de biodisponibilidade (PRISTA et al. 1995). Por isso, uma outra alternativa comercial são as pomadas, géis e emulgéis para uso tópico, que são penetrados mais facilmente em tecidos inflamados, uma vez que possui alta afinidade pela albumina – principal proteína presente na região inflamada – (DAY et al. 1999) de modo que no local a concentração seja maior do que no sangue (BERTONE et al. 2002). Não são todos os fármacos que possui propriedades físico-químicas ou cinético-dinâmicas para serem utilizadas em uso tópico (RIVIERE & PAPICH, 2001), no entanto o diclofenaco sódico é um dos fármacos que se encaixam nesse contexto.

A aplicação tópica oferece inúmeras vantagens como: evita a via gástrica – que além de reduzir a degradação prematura do fármaco, reduz também a irritação gástrica, há uma diminuição de dosagem (aumento da biodisponibilidade), evita o metabolismo de primeira passagem pelo fígado – o que reduz a biodisponibilidade do DS e também a facilidade de manejo na formulação. Ela é, portanto, uma via prática, segura e menos evasiva que as outras vias (VILLARIANO & LANDONI, 2006; MILLS & CROSS, 2006).

1.5 Veículos de administração tópica

Nos sistemas de liberação, o princípio ativo é incorporado a uma rede polimérica a fim de ser liberado. O tempo de liberação do fármaco pode variar de algumas horas até meses dependendo da estrutura da matriz, do tipo de fármaco e da aplicação a que se destina. Com base na grande variedade de polímeros naturais e sintéticos, inúmeros estudos vêm sendo realizados com o intuito de desenvolver sistemas de entrega de fármacos. Entretanto, a utilização na terapêutica tem suas restrições, dentre as quais podemos citar a biocompatibilidade, a toxicidade do produto final, os custos de produção e a necessidade de remoção cirúrgica nos casos de sistemas não biodegradáveis (Jogani et al., 2008).

Existe uma gama de compostos ativos com potencial utilização na terapêutica, mas poucos deles são bem-sucedidos clinicamente graças às complicações atribuídas a biodisponibilidade e a toxicidade (Argaw, 2005). Embora as formas farmacêuticas de uso oral sejam as mais prescritas em função da facilidade de administração e maior estabilidade, são as que mais apresentam problemas de biodisponibilidade (PRISTA et al. 1995). Por isso, uma outra alternativa comercial são as pomadas, géis e emulgeis para uso tópico, que são penetrados mais facilmente em tecidos inflamados, uma vez que possui alta afinidade pela albumina – principal proteína presente na região inflamada – (DAY et al. 1999)

1.6 Hidrogel

Os hidrogéis são materiais poliméricos estruturados por redes poliméricas tridimensionais altamente ou parcialmente hidrofílicas. Esses se destacam por absorverem elevada quantidade de água ou fluido biológico em seu interior sem se dissolver. A elevada hidrofiliabilidade e insolubilidade que caracterizam os hidrogéis são explicadas em virtude da presença de grupos funcionais hidrofílicos, e devido ao entrelaçamento de suas cadeias, respectivamente (BUWALDA, BOERE, DIJKSTRA, FEIJEN, VERMONDEN, HENNINK 2014; ABREU 2008).

Segundo Hoffman (2002), dependendo da composição química do gel, diferentes estímulos internos e externos (por exemplo, alterações no pH, aplicação de um campo magnético ou elétrico, variações de temperatura, radiação e ultrassom) podem ser usados para desencadear o efeito de intumescimento e liberação do fármaco.

Quando o hidrogel seco é inserido em um meio aquoso ou outro meio de intumescimento, as cadeias vão interagir com esse meio externo, absorvendo e acumulando água ao seu redor, intumescendo. Em um primeiro estágio as moléculas que inicialmente adentram o interior do hidrogel começam a hidratar os grupos polares presentes no mesmo, assim promovem ligações entre as moléculas do meio inserido com a estrutura polimérica. Com o decorrer do processo de hidratação ou intumescimento existirá um aumento físico, ou seja, uma expansão de volume dos retículos das cadeias poliméricas dos hidrogéis aprisionando o líquido na parte interna (AOUADA, 2009; BUENO, 2013). Ainda ocorrerá um fenômeno osmótico que conduzirá o solvente para o interior do hidrogel até este atingir o estado de equilíbrio de intumescimento. Nesse estágio, a força osmótica e a força elástica (elasticidade das cadeias poliméricas) se compensam, significando que o mesmo absorveu o máximo de água possível (AOUADA, 2009).

É importante ressaltar que o equilíbrio entre os fenômenos de expansão e retração de uma determinada rede polimérica depende do solvente e da temperatura. Assim, o grau de intumescimento é uma característica dos hidrogéis que deve ser considerada como parâmetro chave no seu uso e nas diversas aplicações, graças à sua influência no coeficiente de difusão do soluto, na molhabilidade da superfície e nas propriedades mecânicas do material (Peppas et al., 2000; Langer e Peppas, 2003).

Os hidrogéis podem ser obtidos através de materiais sintéticos ou naturais. Os hidrogéis sintetizados a partir de polímeros naturais apresentam propriedades satisfatórias, tais como: biodegradabilidade, biocompatibilidade e reconhecimento de moléculas biológicas. Porém, possui precária propriedade mecânica e podem conter patógenos. Alguns hidrogéis sintéticos não são recomendados para utilização em área biomédica, uma vez que podem não exibir propriedades bioativas. Os hidrogéis provenientes de polímeros naturais são os indicados para utilização na área biomédica.

1.6.1 Hidrogel natural

Os hidrogéis preparados a partir de polissacarídeos são os que se destacam por suas excelentes e efetivas propriedades, tais como (HOU, NIE, DU,

XIONG, FU 2015; CAMPOS, 2009): biocompatibilidade, assim se mantém no organismo por um tempo ideal e suas moléculas ou metabólitos que são também biodegradáveis são excluídos de forma natural; bioatividade; atoxicidade.

Esses possuem alta disponibilidade (fácil acesso), são de baixo custo, possuem diversas massas molares, estão presentes em sua estrutura diversos grupos reativos, aceitam modificações químicas e por isso são encontrados em diferentes estruturas bem como diferentes propriedades (KARTHIK, 2015).

Os hidrogéis podem ainda ser obtidos a partir outras fontes de matéria-prima, tanto pela modificação química da celulose e seus derivados de biomassa, quanto pela utilização de polímeros naturais como microorganismos (dextrano), animal (quitosana), algas (alginato), plantas (pectina).e das sementes de Tingui (*Magonia pubescens* St.Hil), um fruto do Cerrado cujos envoltórios das sementes produzem um hidrogel natural.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Síntese e aplicação de hidrogel natural a partir de biomassa do cerrado (*Magonia pubescens*), que possa ser utilizado como veículo de liberação de diclofenaco de sódio.

2.2 Objetivos específicos

- Síntese de hidrogéis
- Teste de toxidade dos hidrogéis produzidos
- Avaliar a capacidade de liberação de diclofenaco de sódio a partir do hidrogel

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Produção do Hidrogel Moído Purificado (HMP) e Moído, Purificado e Reticulado (HMPR)

3.1.1 Coleta da Matéria Prima

A coleta da matéria prima, fruto chamada Tingui (*Magonia pubescens*), foi feita na região de Formosa, no Goiás. A figura 1 mostra uma foto de uma das árvores em que o fruto foi coletado.

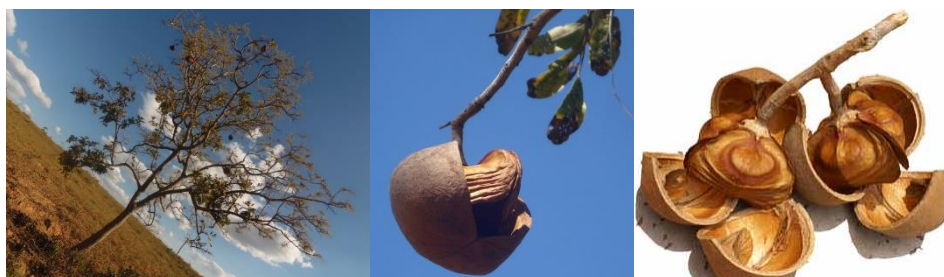


Figura 1: Árvore e fruto do tingui

Os frutos foram coletados enquanto ainda estavam na árvore, e armazenados em sacos plásticos até a chegada ao laboratório.

3.1.2 Moagem e peneiramento do envoltório da *Magonia pubescens* – Extração via seca

As amostras de *Magonia pubescens* foram moídas em moinho de facas e passadas pela peneira 35 Mesh (abertura de 0,5 mm). Neste trabalho, utilizou-se o material com granulometria < 0,5 mm.

3.1.3 Tratamento com Clorito de Sódio 30%

A etapa de purificação tem como objetivo evitar a contaminação, desenvolvimento de reações alérgicas, entre outras alterações não desejadas devido a presença de compostos orgânicos e/ou inorgânicos naturalmente presentes no hidrogel de Tingui bem como melhorar sua performance enquanto hidrogel. É essencial que a etapa de purificação extraia o hidrogel natural contido no envoltório in natura de forma que não haja prejuízos às suas características de absorção de água. Para tal verificação foram realizados testes de intumescimento com o material após a purificação.

O tratamento com o intuito de purificar o material foi feito considerando as melhores condições de tratamento da matéria prima, conforme estudo de Vieira (2015).

Foram pesados 10,0g de envoltório previamente moídos e peneirados em balança de precisão $\pm 0,1$ mg, e transferidos para Erlemayer de 250mL, juntamente com 10 mL de Ácido Acético 1:5 (v/v) e 10mL de Clorito de sódio 30% (m/v). Este Erlemayer foi tampado com outro de 125mL invertido. O sistema foi aquecido em banho termostático a $70 \pm 5^\circ\text{C}$. As adições do ácido e do clorito foram repetidas por pelo menos 3 vezes, em intervalos de 45 minutos, ou até que toda a massa estivesse uniformemente da cor branca. O material resultante foi filtrado e lavado com soluções de água destilada e álcool etílico, ambos com pH 4,0, e depois com água destilada até total neutralização do filtrado.

3.1.4 Modificação do Hidrogel purificado com N'-N-metilenobisacrilamida

A reticulação ou entrecruzamento é um tipo de modificação química que visa unir as cadeias poliméricas. Agentes de reticulação são moléculas que apresentam baixa massa molar e grupos funcionais reativos capazes de permitir a formação de ligações dentro e entre as cadeias poliméricas (GONSALVES et al, 2011) o que faz com que as cadeias fiquem mais rígidas, diminuindo então o grau de reticulação, deixando o material mais rígido e gerando poros – o que faz com que tenha mais espaço para a água. Foram realizados testes de intumescimento nos materiais sintetizados após o processo de reticulação.

As condições e quantidades utilizadas neste trabalho, foram também de acordo com as melhores resultados, conforme estudo de Vieira (2015).

O hidrogel purificado (HP) foi submetido a processo de modificação química, utilizando para isso 0,1mL de solução do catalisador N,N,N',N' – tetrametil-etilenodiamina (TEMED) por grama de HP seco, e o agente de reticulação N'-N-metilenobisacrilamida (MBAAm) na concentração de 30% em relação a massa seca de HP. Foi utilizado ainda 0,2mL de solução de Persulfato de Potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) como inicializador da reação de polimerização via radical livre para cada grama de HP seco. As reações foram mantidas sob agitação máxima por um tempo total de 10 minutos e a uma temperatura de 40°C .

3.1.5 Secagem

Após processo de modificação química os produtos finais (HMP e HMPR) foram submetido a operação de secagem a pressão reduzida, utilizando para tal um liofilizador de modelo LS3000 da marca Terroni.

3.2 Produção do hidrogel Raspado e Purificado (HRP) e Raspado, Purificado e Reticulado (HRPR)

3.2.1 Coleta da Matéria Prima

A matéria prima foi coletada da mesma forma que para obtenção do HMP e HMPR.

3.2.2 Raspagem do Gel in natura – Extração Via úmida

O Tingui foi primeiramente descascado, retirando a semente localizada no interior do envoltório como mostra as figuras 2 e 3.



Figura 2: Parte exterior do envoltório do Tingui.

Fonte: o autor.



Figura 3: Parte interior do envoltório do Tingui e a semente separada.

Fonte: o autor.

O material descascado foi colocado em uma bandeja e adicionou-se água destilada até total cobertura e deixado em descanso por 12 horas para que o gel natural fosse formado. Esse gel foi raspado do envoltório, formando uma grande massa de gel, conforme mostra a figura 4.



Figura 4: Processo de extração do hidrogel natural de *Magonia Pubescens* do envoltório da semente por via úmida.

Fonte: o autor.

3.2.3 Secagem e Moagem do Gel *in natura*

A massa de gel *in natura* foi submetida a secagem em estufa a 60°C. O prazo de secagem foi de 2 a 3 dias. Após este processo, o gel *in natura* seco foi moído em moinho de facas com granulometria de 20 a 30 mesh.

3.2.4 Purificação do Gel *in natura* com agente oxidante X

Estudos do grupo do laboratório realizou testes em que 1,0g de amostra foi submetida a concentração de 7,0 e 20% (v/v) de “agente oxidante X” em duas faixas de pH, 11,5 e 10 a uma temperatura fixa de 60 °C em banho termostatizado. O volume utilizado de cada solução foi de 30 mL, quantidade suficiente para que todo o material ficasse completamente intumescido nesta solução. Após o período de 60 minutos, a mistura foi resfriada e filtrada em cadinho de vidro com placa porosa. A holocelulose resultante foi exaustivamente lavada com água destilada até a neutralidade do filtrado e posteriormente seca até peso constante. E a melhor condição foi de 7,0% e pH 10 para a biomassa em estudo, e esta condição que foi utilizada e produziu o Hidrogel Raspado Purificado (HRP).

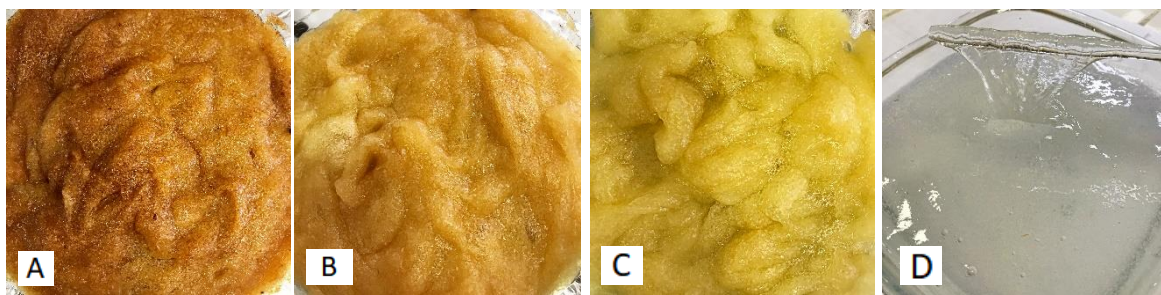


Figura 5: Processo de produção do Hidrogel Raspado Purificado (HRP) → A, B e C: etapas de branqueamento do hidrogel. D: Hidrogel raspado purificado e lavado com água.

Fonte: o autor

3.2.5 Modificação do Hidrogel purificado com N'-N-metilenobisacrilamida

O hidrogel purificado foi submetido a uma modificação química a fim de melhorar seu grau de intumescimento. Esta modificação foi feita utilizando a mesma metodologia do 3.1.4.

3.2.6 Secagem do Gel purificado

Após processo de modificação química os produtos finais (HRP e HRPM) foram submetidos a processo de secagem a pressão reduzida, utilizando para tal um liofilizador de modelo LS3000 da marca Terroni.

3.3 Grau de intumescimento (Q)

Os materiais produzidos, assim como a biomassa *in natura* foram submetidos a um teste para verificar o grau de intumescimento, ou seja, a capacidade de absorção de água e/ou fluidos biológicos.

Para tal, utilizou-se a metodologia JIS – Padrão Industrial Japonês K7223, descrita por Yoshimura, Matsuo e Fujioka, (2006) a qual utiliza folhas de nylon de porosidade de 255 Mesh e dimensões de 100mm x 200mm para a realização dos ensaios. 100mg de biogel seco foram colocados dentro de saquinhos produzidos com folhas de nylon e colocados em água destilada a 25°C, e mantidos em água até estabilização da massa.

O grau de intumescimento (Q) foi determinado utilizando a equação 1:

$$Q = \frac{P_i - P_b - P_s}{P_s} \quad (1)$$

Onde: P_i é o peso do sachê com os hidrogéis intumescidos – P_s ; os são os pesos do hidrogel seco e P_b é o peso do saquinho de chá em branco depois de imerso em de água.

Diante dos resultados encontrados, os passos subsequentes foram realizados apenas como o HRP, uma vez que seu grau de intumescimento foi o maior, além de apresentar um menor custo de pré-tratamento.

3.4 Teste pré-clínico de toxicidade

Uma relação entre o grau de toxicidade e a dose letal média (CL_{50}) de larvas de *Artemia Salina* foi estabelecido por Meyer e colaboradores (1982): para valores acima de 1000 $\mu\text{g/mL}$, os elementos testados, são considerados atóxicos.

Artemia Salina é uma espécie de microcrustáceo da ordem Anostraca, utilizada neste trabalho como bioindicador de toxicidade.

Foi monitorado por um período de 24 horas microplacas com o objetivo de contar as Artemias mortas. O percentual de mortes é calculado de acordo com a equação 2:

$$\% \text{ mortas} = \frac{[(\text{teste} - \text{controle}) * 100]}{\text{controle}} \quad (2)$$

3.5 Ponto de Carga Zero

O ponto de carga zero (PCZ) indica o valor do pH que a superfície do material é neutra, ou seja, o pH é constante. A metodologia empregada para a determinação do PCZ é a do “experimento dos 11 pontos”, onde se usa pH variando de 1,0 a 12,0 de modo que a adsorção de ânions é favorecida quando pH é menor que o PCZ, enquanto que a adsorção de cátions é favorecida quando o pH da solução é maior que o PCZ.

Para a determinação do ponto de carga zero pesou-se aproximadamente 50 mg do HRP e adicionado 50 mL de solução aquosa com valores de pH variando de 1,0 a 12,0 em béquer de 100mL, que foram transferidos para uma mesa agitadora sob agitação de 10 rpm, por 24 horas. Após 24 horas de equilíbrio mediu-se o pH final com o auxílio de um pHmetro de bancada calibrado com soluções padrão de pH 4 e de pH 7. Em seguida foi produzido o gráfico de pH inicial versus pH final, sendo que

o PCZ de cada amostra foi obtido na faixa onde se observou o efeito tampão, ou seja, onde o pH não variou (independentemente do pH inicial). Desta forma, foi feita uma média aritmética dos valores de pH final que tendem aos mesmo valor para a determinação do PCZ.

3.6 Preparação da formulação

Para se estabelecer a quantidade de biogel a ser utilizada em cada formulação, foi realizado um teste de intumescimento utilizando a solução de diclofenaco de sódio saturada (4mg/mL), em que se encontrou um grau de intumescimento (Q) igual a 52g/g. A formulação de DS teve então 48,0 mg de biogel seco, recebendo em cada célula de liberação uma concentração em massa de 10,0 mg de DS.

A redução no grau de intumescimento em relação a água destilada em temperatura ambiente pode ser explicada pela diminuição dos espaços dentro dos poros do hidrogel além da interrupção das ligações de hidrogênio mediada pelas moléculas de Diclofenaco. O inchaço pode ser visto como um mecanismo de dissolução que promove o impulso osmótico do fármaco encapsulado do hidrogel para o meio de liberação (Egbu et al., 2018).



Figura 6: Formulação de DS em HPR

Fonte: o autor

3.7 Ensaio *in vitro* de liberação do DS

Os ensaios de liberação de Diclofenaco sódico com o HPR foram conduzidos em quatro diferentes condições de pH: 2,0; 5,0; 7,5 e 9,0. Através do

ensaio de pHPCZ. A formulação foi colocada em saquinhos de tule, e o saquinho colocado em tubos falcons juntamente com o tampão. O sistema foi colocado em shaker sob agitação aproximada de 100 rpm e temperatura de 36,5°C.

Foram coletadas amostras de 1 mL a cada 15 minutos, repondo a mesma quantidade de tampão a cada coleta a fim de não alterar o equilíbrio químico do sistema. Esse processo foi continuado até a liberação máxima ou até que a concentração de DS ficasse constante no meio. Os experimentos de liberação foram realizados em triplicata.

3.8 Análises em Espectrofotômetro UV-vis

A curva analítica utilizada para a determinação das diferentes concentrações de DS e conseqüentemente da massa de DS liberada, foi feita em solução com água destilada, utilizando $\lambda_{\text{máx}}$ 295nm. A absorbância foi plotada em função do tempo, obtendo-se a curva.

3.9 Cálculo da porcentagem de DS liberada

A partir da massa de DS liberada, determinada pela concentração dada pela leitura na curva analítica, o cálculo de porcentagem de DS liberado em cada temperatura foi feito a partir da equação 3:

$$\% \text{ DS liberada} = \frac{\text{massa liberada}}{\text{massa impregnada}} \times 100 \quad (3)$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Grau de intumescimento

Após a realização da etapa de purificação, os géis foram testados quanto sua capacidade de intumescimento a fim de se verificar se os mesmos não perderam suas propriedades de absorção. Após purificação dos materiais foi realizada uma modificação química, e novamente foram realizados testes para verificar o grau de intumescimento do material.

A dissociação do Clorito de sódio em contato com ácido em meio aquoso produz dióxido de cloro, responsável pelo branqueamento das fibras.



O que provavelmente aconteceu foi a oxidação da lignina e outros compostos formadores da membrana externa da semente de *Magonia pubescens* acompanhado da queima da biomassa pelo ácido. Testes com novos agentes oxidantes têm sido realizados com o intuito de substituir agentes oxidantes clorados no processo. Isso porque, a purificação do biogel exige grandes volumes de água para eliminação total do cloro, além de liberar um gás tóxico durante o processo (Cl_2).

A reticulação ou entrecruzamento é um tipo de modificação química que visa unir as cadeias poliméricas – deixando o gel mais rígido – e consequentemente há formação de poros, o que geralmente faz com que aumente o grau de intumescimento do material.

Os resultados dos testes de grau de intumescimento da biomassa in natura obtida por via úmida e seca bem como os hidrogéis sintetizados a partir deles estão na Tabela 1.

Tabela 1: Grau de intumescimento da biomassa in natura e dos materiais sintetizados

Hidrogel	Grau de intumescimento (g/g)
Via seca in natura	45
Via seca in natura purificado com clorito	52
Via seca in natura purificado e reticulado	80
Via úmida in natura	161

Via úmida purificado com agente oxidante X	152
Via úmida purificado e reticulado	31

Ao se comparar a absorção de água do gel purificado com agente oxidante X com o *in natura*, pode-se ainda concluir que a purificação em pH 10 não é tão agressiva, uma vez que a absorção de água da biomassa *in natura* obtido por via úmida é de 161g/g e dela purificada é de 152 g/g. Sendo assim, a purificação com o “agente oxidante X” por via úmida se mostrou a melhor rota para purificação do hidrogel, uma vez que foi possível obter um grau de intumescimento próximo ao hidrogel via úmida *in natura*

Após a modificação química, o biogel purificado, reticulado e extraído por via úmida (HRPR) obteve uma redução muito significativa na quantidade de água absorvida, passando de 152 g/g para 31g/g. A diminuição do inchamento em hidrogéis reticulados pode ser atribuída à redução nos microcanais, causando obstáculos na difusão da água e redução no movimento de cadeias poliméricas causadas pela presença de agente de reticulação (Kouser et al., 2018).

A razão estequiométrica dos agentes de reticulação tem influência significativa nas propriedades finais do hidrogel, uma vez que afeta o grau de intumescimento reduzindo a porosidade do material, sua hidrofiliabilidade e a difusão de moléculas entre as redes poliméricas formadas. As reticulações também sofrem influência do tipo e da concentração do reagente químico empregado como agente de entrecruzamento. (SCHMIDT et al, 2012). Contudo, observa-se que essa razão está diretamente correlacionada com a estrutura e composição do material. Utilizando as mesmas razões estequiométricas para os materiais obtidos por diferentes rotas de purificação, observamos que o HMPR aumentou o grau de intumescimento em 50% em relação à biomassa *in natura*. Porém o mesmo não aconteceu para o HRPR, uma vez que houve uma redução de quase 80% no Q.

4.2 Teste de toxicidade

O resultado do teste de toxicidade do hidrogel purificado obtido por via úmida utilizando *Artemia salina* é expresso na Tabela 2.

Tabela 2: Percentual de *Artemia* mortas em diferentes concentrações da amostra depois de 8 e 24 horas de exposição.

Concentração (ppm)	% <i>Artemias</i> mortas	
	8h	24h
0	55,0	45,0
250	55,0	42,5
500	12,5	50,0
1250	12,4	55,0
2500	17,5	52,5
5000	27,5	65,0

A toxicidade

nesse teste é determinada pela Dose Letal Mediana (DL_{50}) que é a dose necessária de uma dada substância para matar 50% de uma população em teste. Calcula-se a DL_{50} através da regressão linear dos dados da tabela 2. Para 8 horas o DL_{50} foi 9.093ppm e para 24 horas foi 1.140ppm.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), são consideradas tóxicas substâncias que apresentam valores de DL_{50} abaixo de 1000 ppm em *Artemia salina*. Assim sendo, o hidrogel testado não apresentou toxicidade, uma vez que a $DL_{50} > 1000$ ppm.

A utilização na terapêutica tem suas restrições, dentre as quais podemos citar a biocompatibilidade, a toxicidade do produto final, os custos de produção e a necessidade de remoção cirúrgica nos casos de sistemas não biodegradáveis (Jogani et al., 2008). Sendo assim, é fundamental que o hidrogel – para ser utilizado como veículo de liberação de fármacos – não apresente toxicidade, seja biodegradável e tenha baixo custo de produção –, características presentes no HRPR.

4.3 Ponto de carga zero

A obtenção do Ponto de Carga Zero (PCZ) para o estudo de materiais absorventes e ou liberação de fármaco é muito importante, uma vez que é por meio dele que é possível prever o comportamento do hidrogel perante ao meio e a molécula de interesse.

Na Figura 7 apresenta o gráfico de pHPCZ para HRP. O pHPCZ encontrado foi igual a 7,5, o que representa que a superfície do hidrogel é neutra em pH 7,5. Abaixo deste pH a superfície é carregada positivamente, e acima é carregada negativamente. Com isso, era esperado que o gel – após intumescido com solução de fármaco aniônico – tivesse maior tendência a ser liberado em pHs básicos, devido à pouca atração eletrostática entre as cargas negativas do gel e do meio. E, por outro lado, em pHs ácidos haveria uma grande atração desse fármaco com o gel, o que dificultaria a liberação dele no meio tamponado. Comportamento inverso seria observado para fármacos catiônicos.

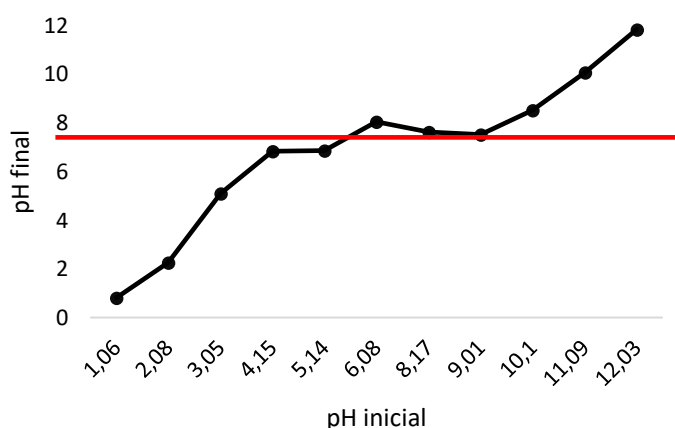


Figura 7: Determinação do ponto de carga zero do Hidrogel obtido por via úmida purificado (HRP)

4.4 Ensaio de liberação de DS

Os ensaios de liberação de Diclofenaco de Sódio foram realizados em quatro diferentes condições de pH: 2,0; 5,0; 7,5 e 9,0. De acordo com o PCZ, as cargas do hidrogel em tampão de pH 2,0 e 5,0 estariam positivas, em 7,5 neutra e em 9,0 estariam carregadas negativamente. Foi possível concluir que em pH 2,0 não houve liberação do DS no meio. Em pH 5,0 a liberação existiu e foi aproximadamente 50% do valor de 10mg adicionado inicialmente. Em pH 9,0 obtivemos a melhor

liberação, em que aproximadamente 91% do DS foi liberado no meio. Em pH 7,5 o comportamento foi semelhante ao tampão de pH 9,0, em que liberou quase 88%.

Em relação ao tempo de liberação, em todos os casos em que ela existiu, a quantidade máxima de DS foram detectadas entre 45 e 60 minutos, como mostra o Figura 8 abaixo:

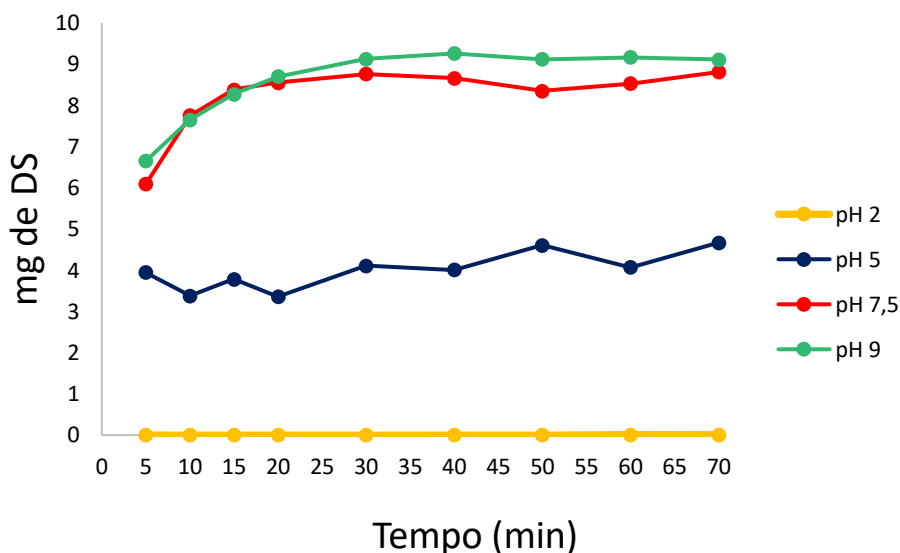


Figura 8: Cinética de liberação de DS utilizando o Hidrogel obtido por via úmida purificado (HRP) como veículo em diferentes condições de pHs

Uma vez colocado em água destilada, o diclofenaco de sódio é desprotonado, passando a ter um caráter negativo. A superfície do hidrogel abaixo do pH 7,5 está positiva, favorecendo adsorção de ânions por atração eletrostática das cargas. Sendo assim, em pHs abaixo de 7,5 esta atração atrapalha a liberação, principalmente em pH 2,0, em que esta atração é muito forte devido à uma grande quantidade de cátions H^+ presentes no meio impedindo que o DS saia da superfície do hidrogel. Em pH 5,0 existe a atração, porém de menor intensidade, o que possibilita a liberação de aproximadamente 50% do DS.

Em tampão com pH acima do PZC do hidrogel, há uma repulsão do DS com a superfície do material, uma vez que nessas condições a absorção de cátions é favorecida, e o que se tem é um ânion de um sal desprotonado. Isto favorece a liberação, e faz com em pH 9 a quantidade liberada seja ligeiramente maior no que em pH 7,5 devido à repulsão ser maior, uma vez que há um maior número de cargas OH^- no meio tampão.

Além disso, o diclofenaco é absorvido no trato intestinal, onde se dissolve bem, e é por isso também – além da atração eletrostática entre gel e DS – que houve um grande desprendimento dele em meio tamponado básico (pHs 7,0 e 9,0). O contrário ocorre no líquido gástrico, em que o pH é ácido, fazendo com que ele sofra ionização – o que dificulta sua solubilização e posterior absorção, o que é comprovado pelo ensaio de liberação em pH 2 em que não houve liberação do DS no meio.

Gonçalves (1999) testando liberação de Diclofenaco de Sódio em microesferas de quitosana reticuladas com Epicloridrina e outras com Glutaraldeído, conseguiu aproximadamente 34,4% em 4 horas de ensaio em pH 6,8 e 30,4% em pH 9 em 6 horas liberação para o primeiro material; e 13,7% de liberação em pH 6,8 em 4 horas de liberação e 14,3% em pH 9 em 6 horas para o segundo. Sendo assim, o presente trabalho apresenta melhores resultados, uma vez que o HRP conseguiu liberar aproximadamente 90% em pH 9.

5. CONCLUSÃO E PERSPECTIVA

Dos pré tratamentos testados com a biomassa *in natura* – moído e purificado com Clorito de Sódio e raspado e purificado com o Agente oxidante – a que apresentou melhor resultado foi o segundo. Uma vez que aumentou 190% o grau de intumescimento. Além do mais, ela também é mais economicamente favorável, uma vez que os custos com a purificação usando o “agente oxidante X” são inferiores ao utilizando o Clorito. Outra vantagem de utilizar o segundo método de purificação é a inexistência de gases tóxicos – no caso da primeira forma de purificação há liberação de gás cloro que deve ser retirado após o término da purificação, aumentando assim mais uma etapa no processo.

Quanto à reticulação: ela foi satisfatória para HMP, aumentando em 54% o grau de intumescimento; porém, o mesmo não ocorreu com o HRP, em que reduziu em quase 80% sua capacidade de absorção de água. Novos estudos deverão ser feitos à fim de testar outras metodologias que consiga aumentar o Q do biogel após purificação.

O presente estudo demonstra que o hidrogel produzido a partir da raspagem da biomassa *in natura* e posterior purificação com Agente oxidante tem

grande potencial para ser utilizado como veículo de liberação de fármacos, uma vez que este material não apresenta toxicidade aguda aparente, como sugerido pelo teste de toxicidade realizado com *Artemia Salina*, o que é ideal para administração tópica. Em relação a produção de comprimidos para administração oral, o hidrogel sintetizado apresenta vantagens em relação à sua matéria prima – biomassa abundante no cerrado brasileiro, que ainda não possui grandes aplicações.

6. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

ABREU, F. O. M. S. **Síntese e caracterização de hidrogéis biodegradáveis à base de quitosana com morfologia controlada com potencial aplicação como carreadores de fármacos.** 2009. 161 f. Tese (Doutorado em Engenharia) – Programa de Pós – Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais – PPGEM, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 2008.

ABREU, F. O. M. S. **Síntese e caracterização de hidrogéis biodegradáveis à base de quitosana com morfologia controlada com potencial aplicação como carreadores de fármacos.** 2008. 161 f. Tese (Doutorado em Engenharia) – Programa de Pós – Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais – PPGEM, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 2008.

Anvisa. Bulário eletrônico da Anvisa. Bula do medicamento Diclofenaco. Acessado em 28/11/2018. Disponível em: [http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM\[26188-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM[26188-1-0].PDF);

AOUADA, F. A. **Síntese e caracterização de hidrogéis de poliacrilamida e metilcelulose para liberação controlada de pesticidas.** 2009. 116 f. Tese (Doutorado em Ciências – Físico-Química) – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia. Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, SP, 2009.

AOUDA, F. A. **Síntese e caracterização de hidrogéis de poliacrilamida e metilcelulose para liberação controlada de pesticidas.** 2009. 116 f. Tese (Doutorado em Ciências – Físico-Química) – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia. Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, SP, 2009.

BATLOUNI, Michel. Anti-Inflamatórios Não Esteroides: Efeitos Cardiovasculares, CérebroVasculares e Renais. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, p.556-563, fev. 2010.

BAWALDA, S. J; BOERE, K. W. M; DIJKSTRA, P.J; VERMONDEN, T; HENNINK, W. E. Hydrogels in a historical perspective: From simple network to smart hydrogels. **Journal of Controlled Release**. Amsterdam. V. 190, p. 254 – 273, 2014.

BERTONE, J. J. et al. Clinical relief of joint lameness in horses. **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP**. V. 48, p. 190 – 193, 2002.

BUENO, V. B; BENTINI, R; CATALANI, L. H; PETRI, D. F. S. **Synthesis and swelling behavior of xanthan-based hydrogels.** *Carbohydrate Polymers*. Oxford. v. 92, p. 1091 – 1099, 2013.

BUENO, V. B; BENTINI, R; CATALANI, L. H; PETRI, D. F. S. Synthesis and swelling behavior of xanthan-based hydrogels. **Carbohydrate Polymers**. Oxford. v. 92, p – 1091 – 1099, 2013.

CAMPOS, F. S. **Desenvolvimento de hidrogéis de dextrano contendo praziquantel.** 2009. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, SP, 2009

Catalano, A. M. **Worldwide safety experience with diclofenac.** *Am. J. Med.*, Newton, MA, v.80, p.81-87, 1986. Supplement 4B.

CHENG, Y. et al. Improvement of direct liquefaction of technical alkaline lignin pretreated by alkaline hydrogen peroxide. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 122, p. 277–281, 1 nov. 2016.

CHENG, Y.-H. et al. Thermosensitive chitosan-based hydrogel as a topical ocular drug delivery system of latanoprost for glaucoma treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 144, p. 390–399, 25 jun. 2016.

COUTINHO, Marcela A. S. et. al. Flavonoides: Potenciais Agentes Terapêuticos para Processo Inflamatório. **Revista Virtual de Química**, Rio de Janeiro, p-241-256, jun. 2009.

CUNHA, R., Moterle, D., Cunha, A. C., Martinelli, F., Baggio, M., & Kanis, L. (2016). Dispositivo implantável de EUDRAGIR/PCL-T/ **Diclofenaco de sódio: caracterização mecânica, liberação do fármaco e atividade anti-inflamatória in vivo.** *Medicina (Ribeirão Preto. Online)*, 49(3), 232-239.

Dicionário de especialidades farmacêuticas: DEF 2003/04. 32ª ed. Rio de Janeiro: Editora de Publicações Científicas, 2003. p.104.

EGBU, R. et al. Antibody loaded collapsible hyaluronic acid hydrogels for intraocular delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 124, p. 95–103, 1 mar. 2018.

GONÇALVES, V. A. **Sistemas de liberação controlada do fármaco diclofenaco de sódio a partir de microesferas de quitosana reticuladas.** Universidade Federal de Santa Catarina, 1999.

HOFFMAN, A. S. **Hydrogels for biomedical applications.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, p. 3-12, 2002.

HOU, R; NIE, L; DU, G; XIONG, X; FU, J. **Natural polysaccharides promote chondrocyte adhesion and proliferation on magnetic nanoparticles/PVA composite hydrogels.** Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. Amsterdam. v. 132, p. 146 – 154, 2015.

KARTHIK, R; MEENAKSHI, S. Removal of Cr(VI) ions by adsorption onto sodium alginate-polyaniline nanofibers. **International Journal of Biological Macromolecules.** Amsterdam v. 72, p. 711 – 717, 2015.

KOUSER, R. et al. Biocompatible and mechanically robust nanocomposite hydrogels for potential applications in tissue engineering. **Materials Science and Engineering: C**, v. 84, p. 168–179, 1 mar. 2018.

LANGER, R.; PEPPAS, N. **Advances in biomaterials, drug delivery, and bionanotechnology.** American Institute of Chemical Engineers Journal, v. 49, n. 12, p. 2990-3006, 2003.

LI, H. et al. Enhanced enzymatic hydrolysis and acetone-butanol-ethanol fermentation of sugarcane bagasse by combined diluted acid with oxidate ammonolysis pretreatment. **Bioresource Technology**, v. 228, p. 257–263, 2017.

MA, R.; GUO, M.; ZHANG, X. Recent advances in oxidative valorization of lignin. **Catalysis Today**, v. 302, p. 50–60, 15 mar. 2018.

MAHINROOSTA, M. et al. Hydrogels as intelligent materials: A brief review of synthesis, properties and applications. **Materials Today Chemistry**, v. 8, p. 42–55, 1 jun. 2018.

MARTÍNEZ-PATÍÑO, J. C. et al. **Bioresource Technology Combined acid / alkaline peroxide pretreatment of olive tree biomass for bioethanol production.** v. 239, p. 326– 335, 2017.

MARTÍNEZ-PATÍÑO, J. C. et al. **Combined acid/alkaline-peroxide pretreatment of olive tree biomass for bioethanol production. Bioresource Technology**, v. 239, p. 326–335, 1 set. 2017^a

MEYER, B. et al. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. **Planta Medica**, v. 45, n. 5, p. 31–34, 1982.

MÜLLER, S. S. et al. Análise clínica e biomecânica do efeito do diclofenaco sódico na consolidação da fratura da tíbia no rato. **ACTA ORTOP BRAS**, v. 12, n. 4, 2004

PEPPAS, N. **Hydrogels in pharmaceutical formulations.** European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 50, p. 27-46, 2002.

PERIS-RIBERA, J E. et al. Pharmacokinetics and bioavailability of diclofenac in the rat. **Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics**, v. 19, n. 6, p. 647-665, 1991.

PRISTA, L. N.; Alves, A. C.; Morgado, R. **Tecnologia farmacêutica**. 4. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1995. v.3.

QI, X. et al. Intra-articular Administration of Chitosan Thermosensitive In Situ Hydrogels Combined With Diclofenac Sodium–Loaded Alginate Microspheres. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, n. 1, p. 122–130, 1 jan. 2016.

SANTOS, Lidianne dos. **Preparação e avaliação de cápsulas gastro-resistentes de diclofenaco de sódio**. 2005. 90 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

SILVA, Jerusa Marques da et al. Anti-Inflamatórios Não Esteroides e suas propriedades gerais. **Revista Científica do Itpac**, Araguaína, v. 7, n. 4, p.1-15, out. 2014.

TOOD, P.A. & Sorkin, E.M. **Drugs**, v. 35, p, 244–285, Mar. 1988

VIEIRA, A. C. M. **Hidrogéis Superabsorventes de biomassa do Cerrado: Síntese e Caracterização**. [s.l.] Universidade de Brasília, 2015.